

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application No. : Not Yet Assigned  
Applicant : **Chun-Ying HUANG et al.**  
Filed : Concurrently Herewith  
Title : **RADIOACTIVE ARSENIC-CONTAINING  
COMPOUNDS AND THEIR USES IN THE  
TREATMENT OF TUMORS**

**MAIL STOP PATENT APPLICATION**

Commissioner for Patents  
P. O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

**CLAIM FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. §119**

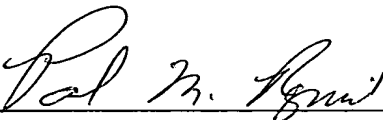
Sir:

Attached hereto is a certified copy of Taiwanese Patent Application No. 092109497, which corresponds to the above-identified United States application and which was filed in the Taiwanese Patent Office on April 23, 2003.

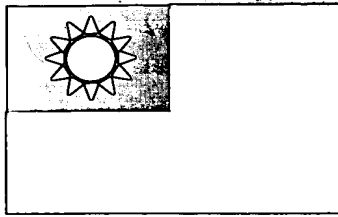
The priority benefits provided by Section 119 of the Patent Act of 1952 are claimed for this application.

Respectfully submitted,

WEBB ZIESENHEIM LOGSDON  
ORKIN & HANSON, P.C.

By 

Paul M. Reznick  
Registration No. 33,059  
Attorney for Applicants  
700 Koppers Building  
436 Seventh Avenue  
Pittsburgh, Pennsylvania 15219-1818  
Telephone: 412-471-8815  
Facsimile: 412-471-4094  
E-mail: [webblaw@webblaw.com](mailto:webblaw@webblaw.com)



中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE  
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS  
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無訛，  
其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this  
office of the application as originally filed which is identified hereunder:)

申請 日：西元 2003 年 04 月 23 日  
Application Date

申請 案 號：092109497  
Application No.

申請 人：行政院原子能委員會核能研究所、台灣東洋藥品工業  
Applicant(s) 股份有限公司

局 長  
Director General

蔡 練 生

發文日期：西元 2004 年 2 月 12 日  
Issue Date

發文字號：09320133420  
Serial No.

# 發明專利說明書

(填寫本書件時請先行詳閱申請書後之申請須知，作※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：\_\_\_\_\_ ※IPC分類：\_\_\_\_\_

※ 申請日期：\_\_\_\_\_

## 壹、發明名稱

(中文) 具放射性的含砷化合物及其用於腫瘤治療的用途

(英文) RADIOACTIVE ARSENIC-CONTAINING COMPOUNDS AND THEIR USES IN THE TREATMENT OF TUMORS

## 貳、發明人 (共 13 人)

### 發明人 1

(如發明人超過一人，請填說明書發明人續頁)

姓名：(中文) 李德偉

(英文) Lee, Te-Wei

住居所地址：(中文) 台北市內湖區文湖街 11 巷 33 號 7 樓

(英文) 7F, No. 33, Lane 11, Wenhua St., Neihu Chiu, Taipei, Taiwan 114, R.O.C.

國籍：(中文) 中華民國

(英文) R.O.C.

## 參、申請人 (共 2 人)

### 申請人 1

(如申請人超過一人，請填說明書申請人續頁)

姓名或名稱：(中文) 行政院原子能委員會核能研究所

(英文) Institute of Nuclear Energy Research ROCAEC

住居所或營業所地址：(中文) 桃園縣龍潭鄉佳安村文化路 1000 號

(英文) 1000, Wenhua Rd., Chiaan Village, Lungtan, Taoyuan

國籍：(中文) 中華民國

(英文) R.O.C.

代表人：(中文) 楊昭義

(英文) Yang, Chao-Yie

☐ 續發明人或申請人續頁 (發明人或申請人欄位不敷使用時，請註記並使用續頁)

發明人 2

姓名：(中文) 黃純瑩  
 (英文) Huang, Chun-Ying  
 住居所地址：(中文) 台北市民權東路三段 170 號 4 樓  
 (英文) 4F, 170 Min-Chuan E. Rd., Sec. 3, Taipei  
 國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

發明人 3

姓名：(中文) 吳明烜  
 (英文) Wu, Ming-Shiuan  
 住居所地址：(中文) 台北市民權東路三段 170 號 4 樓  
 (英文) 4F, 170 Min-Chuan E. Rd., Sec. 3, Taipei  
 國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

發明人 4

姓名：(中文) 陳德容  
 (英文) Chen, Te-Jung  
 住居所地址：(中文) 桃園縣龍潭鄉佳安村忠孝路 10 之 2 號  
 (英文) No.10-2, Jungshiau Rd., Lungtan Shiang, Taoyuan, Taiwan 325  
 國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

發明人 5

姓名：(中文) 張國平  
 (英文) Chang, Kwo-Ping  
 住居所地址：(中文) 桃園縣龍潭鄉淮子埔 46 巷 8-1 號  
 (英文) No. 8-1, Lane 46, Huaitzpu, Lungtan Shiang, Taoyuan, Taiwan 325, R.O.C.  
 國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

發明人 6

姓名：(中文) 張湘戎  
 (英文) Chang, Shiang-Long  
 住居所地址：(中文) 桃園縣中壢市山東里 12 鄰 152 之 12 號  
 (英文) No. 152-12, Lane 12, shandung Li, Jungli City, Taoyuan, Taiwan 325, R.O.C.  
 國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

發明人 7

姓名：(中文) 祈式儀

(英文) Chyi, Shyh-Yi

住居所地址：(中文) 桃園縣龍潭鄉建國路 168 號

(英文) No. 168, Jianguo Rd., Lungtan Shiang, , Taoyuan, Taiwan 325, R.O.C.

國籍：(中文) 中華民國

(英文) R.O.C.

發明人 8

姓名：(中文) 張志賢

(英文) Chang, Chih-Hsien

住居所地址：(中文) 新竹市高峰路 461 號

(英文) No. 461, Gaufeng Rd., Hsinchu, Taiwan 300, R.O.C.

國籍：(中文) 中華民國

(英文) R.O.C.

發明人 9

姓名：(中文) 許銀茂

(英文) Hsu, Yin-Mao

住居所地址：(中文) 台北市內湖區環山路二段 53 巷 6 弄 16 號 2 樓

(英文) 2F, No. 16, Alley 6, Lane 53, Sec. 2, Huanshan Rd., Neihu Chiu, Taipei, Taiwan 114, R.O.C.

國籍：(中文) 中華民國

(英文) R.O.C.

發明人 10

姓名：(中文) 范國賢

(英文) Fan, Kuo-Hsien

住居所地址：(中文) 台中市崇德六路 26 號 9 樓之 2

(英文) 9Fl.-2, No. 26, Chungde 6th Rd., Beituen Chiu, Taichung, Taiwan 406, R.O.C.

國籍：(中文) 中華民國

(英文) R.O.C.

發明人 11

姓名：(中文) 徐維荃

(英文) Hsu, Wei-Chuan

住居所地址：(中文) 苗栗縣造橋鄉造橋村祥騰別墅 47 號

(英文) 47 Hsiang-Teng Villa, Tsao-Chiao Town, Miao-Li County 361, Taiwan

國籍：(中文) 中華民國

(英文) R.O.C.

發明人 12

姓名：(中文) 傅應凱  
 (英文) Fu, Ying-Kai  
 住居所地址：(中文) 桃園縣龍潭鄉建林村建國路 123 巷 3 號  
 (英文) No. 3, Lane 123, Jianguo Rd., Jianlin Village, Lungtan Shiang, Taoyuan, Taiwan  
 國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

發明人 13

姓名：(中文) 高長風  
 (英文) Kao, Chang-Feng  
 住居所地址：(中文) 台北市吳興街 600 巷 37 弄 14 號 2 樓  
 (英文) 2 F, No. 14, Alley 37, Lane 600, Wu-hsing St., Taipei, Taiwan  
 國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

發明人 14

姓名：(中文) \_\_\_\_\_  
 (英文) \_\_\_\_\_  
 住居所地址：(中文) \_\_\_\_\_  
 (英文) \_\_\_\_\_  
 國籍：(中文) \_\_\_\_\_ (英文) \_\_\_\_\_

發明人 15

姓名：(中文) \_\_\_\_\_  
 (英文) \_\_\_\_\_  
 住居所地址：(中文) \_\_\_\_\_  
 (英文) \_\_\_\_\_  
 國籍：(中文) \_\_\_\_\_ (英文) \_\_\_\_\_

發明人 16

姓名：(中文) \_\_\_\_\_  
 (英文) \_\_\_\_\_  
 住居所地址：(中文) \_\_\_\_\_  
 (英文) \_\_\_\_\_  
 國籍：(中文) \_\_\_\_\_ (英文) \_\_\_\_\_

申請人 2

姓名或名稱：(中文) 台灣東洋藥品工業股份有限公司

(英文) TTY Biopharm Company, Limited

住居所或營業所地址：(中文) 台北市民權東路三段 170 號 4 樓

(英文) 4F, 170 Min-Chuan E. Rd., Sec. 3, Taipei

國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

代表人：(中文) 林榮錦

(英文) Lin, Jung-Chin

申請人 3

姓名或名稱：(中文)

(英文)

住居所或營業所地址：(中文)

(英文)

國籍：(中文) (英文)

代表人：(中文)

(英文)

申請人 4

姓名或名稱：(中文)

(英文)

住居所或營業所地址：(中文)

(英文)

國籍：(中文) (英文)

代表人：(中文)

(英文)

#### 肆、中文發明摘要

本發明提供一種用於製備一具放射性的含砷化合物的方法，其包括下列步驟：(i)將一選自於下列群組中的含砷化合物引至一中子照射處理：三氧化二砷( $\text{As}_2\text{O}_3$ )、三硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_3$ )、二硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_2$ )，以及此等之一組合，藉此，該含砷化合物內所包含的砷元素被轉化成為一具放射性的砷同位素；以及(ii)回收由步驟(i)所形成的產物。

本發明亦提供一種藥學組成物，其包含有一治療有效量之該具放射性的含砷化合物以及一藥學上可接受之載劑。該藥學組成物可供應用於諸如血液腫瘤或固態腫瘤的腫瘤/癌症之治療。

#### 伍、英文發明摘要

This invention provides a process for producing a radioactive arsenic-containing compound, comprising the steps of: (i) subjecting a arsenic-containing compound to a neutron irradiation treatment, said arsenic-containing compound being selected from the group consisting of  $\text{As}_2\text{O}_3$ ,  $\text{As}_2\text{S}_3$ ,  $\text{As}_2\text{S}_2$ , and a combination thereof, such that the arsenic element contained in the arsenic-containing compound is converted to a radioactive arsenic isotope; and (ii) recovering the resultant product from step (i).

This invention also provides a pharmaceutical composition comprising a therapeutically effective amount of the radioactive arsenic-containing compound and a pharmaceutically acceptable carrier. The pharmaceutical composition can be used in the treatment of tumors/cancers such as hematological malignancies and solid tumors.



陸、(一)、本案指定代表圖爲：第 3 圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

(無元件)

柒、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

**別、聲明事項**

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項第一款但書或第二款但書規定之期間，其日期為：\_\_\_\_\_

☐ 本案已向下列國家（地區）申請專利，申請日期及案號資料如下：

【格式請依：申請國家（地區）；申請日期；申請案號 順序註記】

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

☐ 主張專利法第二十四條第一項優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；日期；案號 順序註記】

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_
6. \_\_\_\_\_
7. \_\_\_\_\_
8. \_\_\_\_\_
9. \_\_\_\_\_
10. \_\_\_\_\_

☐ 主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

【格式請依：申請日；申請案號 順序註記】

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

# 玖、發明說明

(發明說明應敘明：發明所屬之技術領域、先前技術、內容、實施方式及圖式簡單說明)

## 【發明所屬之技術領域】

### 發明領域

本發明係有關一種具放射性的含砷化合物的製法以及  
5 該具放射性的含砷化合物用於諸如血液腫瘤或固態腫瘤的  
腫瘤/癌症之治療上的用途。特別地，一選自於下列群組中的  
含砷化合物被引至一中子照射處理：三氧化二砷( $\text{As}_2\text{O}_3$ )  
、三硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_3$ )、二硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_2$ )，以及此等之一  
組合，藉此，該含砷化合物內所包含的砷元素被轉化成為  
10 一具放射性的砷同位素。該具放射性的含砷化合物可被配  
製成一藥學組成物來供諸如血液腫瘤或固態腫瘤的腫瘤/癌  
症之治療。

## 【先前技術】

### 發明背景

15 腫瘤/癌症一直是人類健康的威脅者。多年來，醫藥界  
致力於研發有效的藥物以用於治療腫瘤/癌症。但是，目前  
於臨床上，仍尚未有任何一種藥物可以達致有效治療腫瘤/  
癌症的功效，尤其是在與肝腫瘤(liver tumor)相關的疾病[  
例如，肝細胞癌(hepatocellular carcinoma)]上。

20 現今對於轉移性或局部治療失敗的肝癌細胞療法，大  
多是施行經導管動脈血管栓塞術(transcatheteral arterial  
embolization, TAE)或經皮酒精注射法(percutaneous ethanol  
injection)；或是採用全身性化學療法(systemic  
chemotherapy)，例如使用多索如必辛(doxorubicin)、高劑

## 玖、發明說明

量之塔莫西芬(tamoxifen)合併多索如必辛或者聯合化療[二  
氯二胺鉑(cisplatin)+5-氟尿嘧啶(5-FU)+甲醯四氫葉酸  
(leucovorin)，簡稱 PFL]等。雖然該等抗癌藥物的緩解率  
(remission rate)可達 15 至 30%，大多數的肝癌患者由於常  
5 伴隨有肝硬化(liver cirrhosis)和/或其他併發症[例如白血球  
下降(leukocyte reduction)、血小板下降(platelet reduction)  
或肝功能代償不全(liver function decompensation)之故，而  
不能適用全身性化學療法。因此，化學療法無法有效地延  
長肝癌患者的整體存活期(overall survival)。而自 1990 年  
10 起，含砷化合物(arsenicals)在腫瘤/癌症的治療上提供另一  
個研究發展的方向。

在傳統的中醫藥典籍或西方醫藥典籍中，含砷化合物  
(arsenicals)都占有一席之地。傳統中藥(Traditional Chinese  
Medicine, TCM)當中的砷類藥物(arsenical medicines)主要  
15 為砒霜(Arsenic)、雄黃(Realgar)和雌黃(Orpiment)等。此等  
砷類藥物在傳統中醫典籍上被記載為具有劇毒性，故須以  
微量來使用以達致療效。

砒霜(漢語拼音為 PISHUANG，英文為 Arsenic 或  
Arsenolite)又有中文別名為「砒石」、「白砒」、「信石」，其  
20 為砒石(Arsenicum sablimatum)經昇華而得的精製品，所含  
主要化學成分是三氧化二砷( $As_2O_3$ )。砒霜( $As_2O_3$ )為白色粉  
末，無臭、無味，能溶於水、乙醇、酸類及鹼類，加熱則  
升散而發蒜臭。砒霜的功用為化痰平喘、截瘧殺蟲、蝕瘡  
去腐，主治賽痰哮喘、瘧疾痔漏、瘀腐瘰、癰疽腐肉。

## 玖、發明說明

雄黃(漢語拼音為 XIONGHUANG, 英文為 Realgar)又有中文別名為「明雄黃」、「雄精」、「腰黃」, 其為硫化物類雄黃族礦物雄黃的礦石, 所含主要化學成份為二硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_2$ )。雄黃的功用為燥濕、祛風、殺蟲、解毒, 主治疥癬、禿瘡、癰疽、走馬牙疳、纏腰蛇丹、破傷風、蛇蟲螫傷、腋臭、哮喘、驚癇痰涎、痔、喉痹等

雌黃(漢語拼音為 CIHUANG, 英文為 Orpimentum)是硫化物類礦物雌黃(Orpiment)的礦石, 其所含主要化學成份為三硫化二砷(化學式為  $\text{As}_2\text{S}_3$ )。雌黃的功用為燥濕、殺蟲、解毒, 主治疥癬、惡瘡、蛇蟲螫傷、癰癤及寒痰咳嗽、蟲積腹痛等。

自 1990 年起, 於中國大陸開始有人進行三氧化二砷或是含雄黃成分的「複方青黛片(Composite Indigo Naturalis Tablet)」用於治療急性前骨髓細胞白血病(Acute promyelocytic leukemia, APL)的研究, 並相繼發表有關三氧化二砷之基礎藥理研究與臨床醫學研究。自此, 三氧化二砷重新受到醫學界廣泛的重視。

曾有文獻報導, 經由靜脈注射來投予三氧化二砷(10 mg/d)給患有復發性急性前骨髓細胞白血病的病患, 可以達到 90% 的完全緩解率(complete remission, CR) (Shen ZX et al., *Blood* (1997), 89: 3354)。另有文獻報導, 除了三氧化二砷之外的其他含砷物質, 例如, 含有  $\text{As}_2\text{S}_2$  的「複方青黛片」和純質的四硫化四砷( $\text{As}_4\text{S}_4$ ), 可分別達到 98% 和 84.9% 之完全緩解率 (Wang ZY., *Cancer Chemother*

## 玖、發明說明

*Pharmacol (2001), 48 (suppl 1): S72-S76)。*

又有臨床研究指出，對於患有復發性急性前骨髓細胞白血病的病患，以靜脈注射投予低劑量的三氧化二砷(0.08 mg/kg/day)治療歷時 28 天之後，CR 可達 80%，並可減輕  
5 三氧化二砷所造成的副作用(諸如腸胃不適、顏面水腫和心臟毒性等等)(*Shen Y, et al., Leukemia (2001), 15: 735-741)。*

另有文獻報導，對於復發性或對於全-反式-維生素 A 酸(all-trans-retinoic acid, ATRA)具抗藥性的 APL 患者，三氧化二砷與其他藥物(例如 GM-CSF)的組合使用可以產生  
10 加乘性治療效果(*Muto A et al., Leukemia (2001), 15(8): 1176-1184)。*

近年來，醫學界已逐漸探索出三氧化二砷在 APL 的治療上的作用機制。依據文獻報導，三氧化二砷對於 APL 細胞株的抑制作用的可能機制是：在高濃度下(0.5 至 2  
15  $\mu\text{mol/L}$ )會啟動細胞凋亡(apoptosis)，而於低濃度下(0.1 至 0.5  $\mu\text{mol/L}$ )會誘導細胞分化(*Chen GQ, et al., Blood (1997), 89: 3345)。*

於 2002 年，Miller 等人於 *Cancer Research (2002), 62:3893-3903* 中提出三氧化二砷的可能作用機制，而這些  
20 作用機制會造成細胞凋亡的誘發(induction of apoptosis)、生長與血管生成的抑制(inhibition of growth and angiogenesis)以及分化的促進(promotion of differentiation)，而因為三氧化二砷會影響如此多種的細胞與生理途徑，各種不同的惡性癌(malignancies)，包括血癌(hematologic

## 玖、發明說明

cancers)與固態腫瘤(solid tumors)在內，也許可以給予使用三氧化二砷的治療。

於 2001 年，美國的國家衛生研究院(National Institutes of Health, NIH)進行三氧化二砷在血液腫瘤及固態腫瘤之癌細胞株的臨床試驗，並於報告中指出，三氧化二砷可抑制多種癌細胞株的生長，並促進癌細胞株的細胞凋亡。在血液腫瘤疾病的臨床試驗方面，除了急性前骨髓細胞白血病之外，尚包括急性骨髓性白血病(acute myeloid leukemia, AML)、急性淋巴細胞白血病(acute lymphocytic leukemia)、慢性骨髓性白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)、非何杰金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)、何杰金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、慢性淋巴細胞白血病(chronic lymphocytic leukemia)、骨髓成形不良症候群(myelodysplastic syndrome)以及多發性骨髓瘤(multiple myeloma)等。而在固態腫瘤的臨床試驗方面，包括攝護腺癌(prostate cancer)、子宮頸癌(cervical cancer)以及膀胱癌(bladder cancer)等 (Murgu AJ, *The Oncologist* (2001), 6 (suppl 2):22-28)。

美國的食品與藥物管理局(FDA)於 2000 年 9 月核准三氧化二砷當作孤兒藥上市，以用於治療急性前骨髓細胞白血病。中華民國衛生署於 2002 年 1 月核准台灣東洋藥品公司上市一種三氧化二砷藥學製劑(衛署罕藥製第 000005 號，中文名稱為「砷定注射劑」，英文名稱為「ASADIN Injection」)。

## 玖、發明說明

近幾年來在中國大陸有關使用三氧化二砷來治療固態腫瘤的研究亦逐漸發展。有一研究報導指出，利用罹患肝腫瘤的小鼠的動物模型(animal model)來進行三氧化二砷的藥效評估，結果顯示，2 mg/kg 的三氧化二砷連續投藥 10 天，可使小鼠的生命延長率達到 127.2% (林晨等人, “三氧化二砷抗腫瘤作用的研究”, 中國中藥雜誌(1999), 24(3): 1-3)。

國際專利申請案 WO 99/24029 (對應於 CN 1285743A) 揭示用於治療多種白血病、淋巴瘤和固態腫瘤的方法，其包括對患者投藥以治療有效量的三氧化二砷或是一種有機砷物質(organic arsenical)，亦即米拉索普(melarsoprol)，並且可以組合使用其它治療劑[例如，化學治療劑(chemotherapeutics)、放射防護劑(radioprotectants)、放射治療劑(radiotherapeutics)]或其他醫療技術，俾以改善病患的生活品質。而且，該案所用的藥學組成物是為無菌溶液(sterile solution)，適用於靜脈內注射(intravenous injection)或輸入(infusion)，亦可適用於口服投藥(oral delivery)、局部或經皮投藥(topical or transdermal delivery)，而該無菌溶液的配製涉及到特定 pH 值的調整。

在腫瘤/癌症的治療上，除了化學療法之外，自 1898 年居禮夫婦發現放射性鐳元素( $^{226}\text{Ra}$ )之後，放射線開始被應用於醫學領域以供疾病的診斷、治療，特別是癌症(例如皮膚癌、鼻咽癌等)的治療。二次世界大戰結束之後，由於核子科學研究的進展，使科學家更瞭解放射線對於生物體的影響，更加改善了放射線治療的方法與技術，並提昇癌



## 玖、發明說明

症病患的生存率與存活時間，同時也減低放射線對於正常組織的副作用。

內放射核種治療法(internal radionuclide therapy, IRT)的作用原理是，利用適當的放射性藥劑(radiopharmaceutics)而將高輻射劑量遞送至被標的的疾病組織並避開正常組織。為了選擇性定位，對於疾病組織具專一性的離子或分子被用來作為治療用放射核種(therapeutic radionuclide)之載劑，或者可溶性與微粒子放射性藥劑被區域性地引入，俾以提高攝入(uptake)或將放射性藥劑限制在一身體腔室內。

要供醫療用途用的放射核種必須能放射具有高線性能量傳遞(linear energy transfer, LET)的放射線，俾以破壞惡性以及其他快速增殖的細胞族群。放射核種包括：(1)會放射 $\beta$ 粒子的放射核種，(2)會放射 $\alpha$ 粒子的放射核種，以及(3)會經由電子捕捉(electron capture, EC)與內部轉化(internal conversion, IC)而衰變(decay)並導致歐皆電子(Auger electron)與 C-K 電子的放射的放射核種。 $\beta$ 粒子是在毫米(mm)的範圍內，而因此對於大型腫瘤是有效的。 $\alpha$ 粒子是在 50-100  $\mu\text{m}$  的範圍內，因此對於小型腫瘤以及微轉移(micrometastases)是有效的。因為歐皆電子與 C-K 電子是在 $<0.1 \mu\text{m}$ 的範圍，會放射歐皆電子與 C-K 電子的放射核種僅有在其能跨越細胞膜進入至細胞核內以破壞 DNA 時才是有效的。

以上所述是參考 Meral Tayan Ercan and Meltem Caglar,

## 玖、發明說明

*Current Pharmaceutical Design* (2000), 6:1085-1121 此篇回顧性論文。於此篇論文的表 1 與表 2 中列出多種放射核種，包括  $^{32}\text{P}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{76}\text{As}$ 、 $^{89}\text{Sr}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{165}\text{Dy}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、 $^{169}\text{Er}$ 、 $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$  以及  $^{198}\text{Au}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Bi}$  以及  
5  $^{213}\text{Bi}$ ，其中  $^{131}\text{I}$  是最被廣為應用的治療用放射性藥劑，並供用於治療甲狀腺癌與甲狀腺機能亢進(hyperthyroidism)。於此篇回顧性論文的表 3 內還提到一些放射核種被製備成特定形式的治療用放射性藥劑以供特別的應用。但是，此篇回顧性論文沒有提到諸如三氧化二砷、三硫化二砷與二  
10 硫化二砷之含砷化合物可否被製造成治療用放射性藥劑。

2002 年，Yong-Jin Chun 等人於 *FEBS Letter*, (2002), 519: 195-200 中報導，在活體內(in vivo)與活體外(in vitro)實驗中，三氧化二砷會使人類子宮頸癌細胞對於離子化輻射更為敏感，而且使用三氧化二砷的化學療法以及離子化  
15 輻射線療法這兩種療法的組合，對於子宮頸癌之治療會產生協同效果。

以上所提到的所有文獻、專利前案以及當中所引述的文獻的全部揭露內容在此被併入本案以作為參考資料。

### 【發明內容】

#### 20 發明概要

為發展可有效治療腫瘤/癌症的藥物，申請人嘗試結合藥物化學療法與放射療法，而提供一種用於製備一具放射性的含砷化合物的方法，其包括下列步驟：

(i) 將一選自於下列群組中的含砷化合物引至一中子照

## 玖、發明說明

射處理：三氧化二砷( $\text{As}_2\text{O}_3$ )、三硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_3$ )、  
二硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_2$ )，以及此等之一組合，

藉此，該含砷化合物內所包含的砷元素被轉化成為  
一具放射性的砷同位素；以及

5 (ii) 回收由步驟(i)所形成的產物。

本發明亦提供一種藥學組成物，其包含有一治療有效  
量之該具放射性的含砷化合物以及一藥學上可接受之載劑  
。依據本發明的藥學組成物可供應用於諸如血液腫瘤或固  
態腫瘤的腫瘤/癌症之治療上，且相較於現有的以三氧化二  
10 砷為主的抗癌藥物(諸如那些被揭示於上述專利案或文獻內  
者)，有更為顯著的療效。

本發明之其他目的、特徵及優點，在參照以下詳細說  
明與較佳實施例並配合隨文檢附之圖式所示後，將變得明  
顯，在圖式中：

15 圖式簡單說明

第 1 圖顯示經中子照射處理後的三氧化二砷內所含砷  
元素  $^{75}\text{As}(n,\gamma)^{76}\text{As}$  之伽馬能譜(gamma-energy spectrum)；

第 2 圖顯示依據本發明的具放射性三氧化二砷，經由  
尾靜脈及肝動脈注射後，於不同時間在大鼠體內腫瘤中的  
20 分布情況；以及

第 3 圖顯示依據本發明的具放射性三氧化二砷，經由  
尾靜脈及肝動脈注射後，於不同時間在大鼠體內各器官中  
的分布情況。

## 【實施方式】

# 玖、發明說明

## 發明之詳細說明

在第一個方面，本發明提供一種藥學組成物，其包含有：

5 (a) 一治療有效量之一具放射性的含砷化合物，該具放射性的含砷化合物係藉由一包含下列步驟之方法而被製得：

(i) 將一選自於下列群組中的含砷化合物引至一中子照射處理：三氧化二砷( $\text{As}_2\text{O}_3$ )、三硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_3$ )、二硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_2$ )，以及此等之一組合，  
10

藉此，該含砷化合物內所包含的砷元素被轉化成為一具放射性的砷同位素；以及

(ii) 回收由步驟(i)所形成的產物；以及

(b) 一藥學上可接受之載劑。

15 在第二個方面，本發明提供一種用以製備一具放射性的含砷化合物之方法，其包含下列步驟：

(i) 將一選自於下列群組中的含砷化合物引至一中子照射處理：三氧化二砷( $\text{As}_2\text{O}_3$ )、三硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_3$ )、二硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_2$ )，以及此等之一組合，  
20

藉此，該含砷化合物內所包含的砷元素被轉化成為一具放射性的砷同位素；以及

(ii) 回收由步驟(i)所形成的產物。

本案方法中所使用的中子照射處理可為熟習此項技術者所詳知的技術(例如，參見 *Samir C. Mehta and D. Robert*

## 玖、發明說明

Lu (1996), *Pharmaceutical Research*, 13 (3): 344-351)。就本發明而言，可將一選定的含砷化合物放在一原子反應器內，然後對該含砷化合物進行中子照射處理以引發核反應 (nuclear reaction)，因而使該含砷化合物內所包含的砷元素  
5 被轉化。

在本發明的一個較佳具體例中，被用來進行中子照射處理的該含砷化合物是  $\text{As}_2\text{O}_3$ 。

在本發明的一個較佳具體例中，由本案方法所生成的該具放射性的含砷化合物可放射出 (emit)  $\gamma$  粒子與  $\beta$  粒子。

10 在本發明的又一個較佳具體例中，由本案方法所生成的該具放射性的含砷化合物含有  $^{76}\text{As}$  同位素。

在一個更佳具體例中，由本案方法所生成的該具放射性的含砷化合物是具有放射性的三氧化二砷，其可放射出  $\gamma$  能量 [0.559 MeV (45%), 0.563 MeV (1.2%), 0.657 MeV  
15 (6.2%)] 以及  $\beta$  能量 [1.75 MeV (8 %), 2.40 MeV (35%), 2.96 MeV (51%)]。  $^{76}\text{As}$  的半衰期 ( $T_{1/2}$ ) 為 26.5 小時。

依據本發明的該具放射性的含砷化合物經測試後被證實具有抑制腫瘤細胞生長的活性，因此，本發明亦預期到該具放射性的含砷化合物在製備藥學組成物上的應用。

20 於是，本發明亦提供一種藥學組成物，其包含：

- (a) 一治療有效量之一藉由本案如上所述的方法而製得的具放射性的含砷化合物；以及
- (b) 一藥學上可接受之載劑。

依據本發明，該藥學組成物可供應用於治療一腫瘤或

## 玖、發明說明

癌症。較佳地，該腫瘤或癌症係選自於下列所構成的群組：  
：血液腫瘤(hematological malignancies)以及固態腫瘤(solid tumors)。

較佳地，該固態腫瘤係選自於下列所構成的群組：乳  
5 癌(breast cancer)、直腸癌(rectal cancer)、肝腫瘤(liver tumor)、卵巢癌(ovarian cancer)以及攝護腺癌(prostate cancer)。更佳地，該固態腫瘤是一選自於下列所構成的群組中的肝腫瘤：肝細胞癌(hepatocellular carcinoma)、膽管  
瘤(cholangiocarcinoma)、肝臟細胞癌(liver cell carcinoma)  
10 、纖維層變異型肝腫瘤(fibrolamellar variant of hepatocellular carcinoma)、肝內膽管癌(intrahepatic bile duct carcinoma)、肝細胞及膽管混合癌(mixed hepatocellular cholangiocarcinoma)、未分化肝細胞癌(undifferentiated hepatocellular carcinoma)、肝腫瘤併總膽管侵入(hepatoma  
15 with tumor invasion to common bile duct)、肝母細胞腫瘤(hepatoblastoma)、兒童肝腫瘤(childhood hepatic tumor)以及原發性肝細胞癌(primary hepatocellular carcinoma)。

較佳地，該血液腫瘤是一白血病(leukemia)或淋巴瘤(lymphoma)。更佳地，該血液腫瘤是選自於下列所構成的  
20 群組：急性前骨髓細胞白血病(APL)、急性骨髓性白血病(AML)、急性淋巴細胞白血病(acute lymphocytic leukemia)、慢性骨髓性白血病(CML)、非何杰金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)、何杰金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、慢性淋巴細胞白血病(chronic lymphocytic

## 玖、發明說明

leukemia)、骨髓成形不良症候群(myelodysplastic syndrome)以及多發性骨髓瘤(multiple myeloma)。

依據本發明，“治療有效量”此術語係指當一種含有放射性物質的藥學組成物被投予一需要該組成物來治療的哺乳動物時，一足以提供所欲達致之治療功效且不會對非標的組織或器官產生非所欲的嚴重輻射危害的用量。該治療有效量會視不同的因素而變化，該等因素包括，例如，病症之種類，要被治療的個體之體重、年齡、身體狀況以及反應，藥物的投藥途徑等。此一治療有效量可為熟習此藝人士來決定。

依據本發明的藥學組成物可利用熟習此藝者所詳知的技術而被製造成適於非經腸道的、口服的或局部投藥的形式，例如，溶液(solution)、膠囊(capsule)、分散體(dispersion)、懸浮液(suspension)等等。

較佳地，依據本發明的藥學組成物被製造成適於注射用的形式，例如粉末針劑(powder injection)、注射用凍晶產品(lyophilization product for injection)、乳化針劑(emulsion injection)、油性針劑(oily injection)、微脂體針劑(liposome injection)等形式。

依據本發明，“藥學上可接受之載劑”此術語是指本技藝所詳知的適用於藥物製造的載劑，這包括，但不限於，水、生理鹽水、甘油、有機溶劑、安定劑、螯合劑、防腐劑、乳化劑、懸浮劑、稀釋劑、膠凝劑、脂質體等等。

依據本發明的藥學組成物之投藥劑量與投藥次數會視

## 玖、發明說明

下列因素而變化：要被治療的疾病之嚴重性，投藥途徑，以及要被治療的個體之體重、年齡、身體狀況與反應。一般而言，依據本發明的藥學組成物的每日投藥劑量通常是 0.01 至 0.6 mg/Kg 體重，呈單一劑量或是分成數個劑量的形式，且可被非經腸道地、口服地或局部地投藥。較佳地，依據本發明的藥學組成物是經由連續靜脈內注射 (continuous intravenous injection)、局部動脈單一注射 (topical arterial single injection)、局部腫瘤直接注射 (topical tumor direct injection) 等方式被投藥。

10 依據本發明的藥學組成物可被每天投藥歷時一最多為 60 天的期間或是直到出現緩解 (remission)，繼而再給予 2 至 10 個額外療程，每次歷時 5-60 天。

在本發明的一個較佳具體例中，該具放射性的含砷化合物是經中子照射過的三氧化二砷，且其被製造成呈一水性注射液之形式。在一更佳具體例中，該水性注射液係由適量的該具放射性的三氧化二砷、乙二胺四乙酸二鈉鹽 (ethylene diamine tetracetic acid disodium salt)、緩衝溶液以及水所構成。

20 在一個較佳具體例中，該水性注射液具有一放射活性範圍為 2 至 4 mCi/ml。在一更佳具體例中，該水性注射液具有一放射活性範圍為 2.77 至 3.25 mCi/ml。

在一個較佳具體例中，對於肝腫瘤患者，依據本發明的藥學組成物可藉由肝動脈單一注射及肝腫瘤直接注射方式來投藥，更佳為採用肝腫瘤直接注射方式。



## 玖、發明說明

依據本發明的藥學組成物可被單獨地投藥，或是與其他用於治療腫瘤/癌症的治療藥物或治療方法來組合使用，該等治療藥物包括，但不限於，多索如必辛(doxorubicin)、塔莫西芬(tamoxifen)、紫杉醇(taxol)、氮芥(nitrogen  
5 mustard)、5-氟尿嘧啶(5-flurouracil)、長春花鹼(vinblastine)與全-反式-維生素 A 酸。該等治療方法則包括化學療法和外部光束放射療法(external beam radiation therapy)。

本發明將就下面實施例來作進一步說明，但應瞭解的是，該等實施例僅為例示說明之用，而不應被解釋為本發明  
10 的實施之限制。

### 較佳實施例之詳細說明

#### 1.動物來源：

於下面實驗中，使用分別購自於國立陽明大學動物中  
15 心以及國家科學委員會動物中心的雄性 Spawn Dawley 大鼠(5 週大，150g)。該等大鼠於購入後被飼養於行政院原子能委員會核能研究所動物室，並於固定溫度、溼度以及光週期下來飼養。飼養期間，不限制水與飼料的供給，一週固定更換墊料二次。

#### 20 2.腫瘤細胞來源：

被用來建立帶有肝腫瘤的動物模型的腫瘤細胞是購自於美國類型培養收集中心[American Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108 USA]的大鼠肝腫瘤細胞 N1-S1 (hepatoma cell N1-S1)，其經連續過代培養

## 玖、發明說明

而建立一母細胞庫(Master Cell Bank)以及一工作細胞庫(Working Cell Bank)。

### 實施例 1. 具放射性的三氧化二砷的製備

將 5 mg 的三氧化二砷粉末(可得自於台灣東洋藥品公司)置入至一石英管(Quartz® glass, Tosiba, Japan)中，並以瓦斯/氧氣混合焰將石英管的管口完全封閉。石英管以鋁箔包裹後被置入一照射專用鋁管照射靶內，並在會使所形成的產物具有一放射活性為 2-4 mCi 的操作條件下進行中子照射處理歷時 30 小時。

照射後之石英管用一切割工具予以切開，並將 3 ml 的 1N NaOH 溶液添加至被切開後之石英管內以溶解  $As_2O_3$ 。於 20 分鐘之後，予以加入 1 ml 的 1N HCl 溶液，最後加入 1 ml 的生理食鹽水，以將溶液濃度調整為 1 mg/ ml。對於所得到的含有經中子照射的三氧化二砷之溶液，使用一多頻道脈衝分析儀(Multi-channel Analyzer, MCA)來進行伽馬能譜分析。

以相同方式將未經中子照射處理的三氧化二砷配製成一濃度亦為 1 mg/ ml 的溶液，並於後面的動物實驗中當作對照組來用。

### 20 結果：

第 1 圖顯示含有經中子照射過的三氧化二砷之溶液的伽馬能譜分析結果。同時，下面表 1 顯示該經中子照射過的三氧化二砷內所含砷元素的核能數據(nuclear data)。本實施例之結果顯示，三氧化二砷在原子反應器內經中子照

## 玖、發明說明

射後會引發核反應，而產生具有放射性的核種，除了可放射出  $\gamma$  能量 [0.559 MeV (45%), 0.563 MeV (1.2%), 0.657 MeV (6.2%)]，還會放射出  $\beta$  能量 [1.75 MeV (8%), 2.40 MeV (35%), 2.96 MeV (51%)]。因此，經中子照射過的三氧化二砷應可供應用於腫瘤/癌症的治療(可以殺死癌細胞)。

表 1. 經中子照射過的三氧化二砷內所含砷元素的核能數據

元素	靶核	天然存在率(%)	核反應	$\alpha$ 生成	半衰期	熱中子截面 $\sigma_{th}(b)$	放出 $\gamma$ 能量 (MeV)	放出 $\beta$ 能量 (MeV)
As	$^{75}\text{As}$	100	(n, $\gamma$ )	$^{76}\text{As}$	26.5 小時	4.4	0.559-45% 0.563-1.2% 0.657-6.2% 1.213-1.4%	1.75-8% 2.40-35% 2.96-51%
$^{75}\text{As}_{33}(n, \gamma)^{76}\text{As}_{33} \xrightarrow{\beta} ^{76}\text{Se}_{34}(\text{安定的})$								

### 實施例 2. 帶有肝腫瘤的動物模型的建立

操作方法：

被用來建立帶有肝腫瘤的動物模型的腫瘤細胞是購自於美國類型培養收集中心 [American Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108 USA] 的大鼠肝腫瘤細胞株 N1-S1 (rat hepatoma cell line N1-S1)，其經連續過代培養而建立一母細胞庫 (Master Cell Bank) 以及一工作細胞庫 (Working Cell Bank)。

大鼠肝腫瘤細胞 N1-S1 是懸浮型細胞，其被散浮於添加有 1% 青黴素 (penicillin)(GibcoBRL®) 與 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum)(GibcoBRL®) 的依思可夫氏改良的杜貝可氏培養基 (Iscove's Modified Dulbecco's Medium,

## 玖、發明說明

IMDM)(GibcoBRL®)內，並於一含 5% CO<sub>2</sub> 的 37°C 恆溫培養箱內進行培育。

在培育至  $1.5 \times 10^6$  細胞/ml 時，取出  $4 \times 10^6$  細胞/0.06ml 的 N1-S1 細胞，經由外科手術將之植入至雄性大鼠(Spawn Dawley, 5 週大, 150g)的肝臟及肝臟臟器包膜之間，並將傷口縫合。繼續飼養大鼠 10 天後，以超音波掃描檢測是否有肝腫瘤的生長並檢測腫瘤的大小。經掃描後生有肝腫瘤之動物將被拿來進行腫瘤生長抑制實驗用，而其餘動物則予以安樂死。

### 10 結果：

以第 2、7 及 9 等三代的 N1-S1 大鼠肝癌細胞來進行肝腫瘤動物模型的建立，所得比較結果示於下面表 2 中。

表 2. 被植入不同代數的 N1-S1 細胞的大鼠的腫瘤生長機率

代數	腫瘤植入日期 (月/日/年)	植入動物數	實驗進行日期 (月/日/年)	長出腫瘤 的動物數	腫瘤 生長率
9	07 17, 02	70	07 31, 02	20	28.57%
7	08 07, 02	70	08 21, 02	25	35.71%
7	08 14, 02	70	08 28, 02	26	37.14%
2	10 07, 02	40	10 31, 02	25	62.5%
2	11 11, 02	50	11 21, 02	30	80%

將第 9 代的 N1-S1 大鼠肝癌細胞植入至 5 週大的大鼠的肝臟內，在 10 天後，大鼠生成肝腫瘤之機率約為 30%。以第 7 代的 N1-S1 大鼠肝癌細胞植入至 5 週大的大鼠之肝臟內，在 10 天後，大鼠生成肝腫瘤之機率約為 35%。將第 2 代的 N1-S1 大鼠肝癌細胞植入至 5 週大的大鼠的肝臟內，在 10 天後，大鼠生成肝腫瘤之機率約為 70%。

在本實驗之初，使用第 9 代的肝腫瘤細胞株，肝腫瘤

## 玖、發明說明

的生成機率約為 30%，且腫瘤的生長狀況不佳。改用第 2 代的細胞株來植入至大鼠體內後，肝腫瘤的生長機率提高為 70%，且生長狀況較佳。因此本實驗發現，肝腫瘤細胞 N1-S1 細胞株植入至大鼠體內 10 天後，並非全數都可長出肝腫瘤，而且肝腫瘤生長之機率頗低；長有肝腫瘤後，腫瘤有可能在無任何藥物治療下被大鼠自體吸收而縮小甚至消失。

由此判斷，繼代培養次數較少的細胞株，其細胞尚未改變型態且狀況較佳也較為穩定，大鼠生成肝腫瘤之機率也因此大為提昇。此外，當使用繼代培養次數較少的細胞株，大鼠在生成肝腫瘤後若不給予藥物治療，大鼠體內的腫瘤會持續生長，最後導致大鼠因癌症轉移及產生腹水而死亡。

本實驗以大鼠所建立的肝腫瘤動物模式是屬於穩定的動物模式，但在選用細胞株時最好使用繼代培養次數少於 5 次的細胞株，俾以維持腫瘤細胞的生長狀態。

### 實施例 3. 生物分布試驗(Biodistribution test)

#### 肝動脈注射(*hepatic artery injection*)：

經由外科手術將大鼠的肝動脈血管與肝組織剝離，並將一 PE-10 管(PE-10 tube)插入至肝動脈內，再予以注入實施例 1 所製備的含有經中子照射處理的三氧化二砷的測試注射液；注射後將 PE-10 管抽出，並以手術用線將血管封綁固定，繼而縫合傷口。

## 玖、發明說明

### 尾靜脈注射：

以 25 號針頭的注射器直接由大鼠的尾靜脈注入實施例 1 所製備的含有經中子照射處理的三氧化二砷的測試注射液。

### 5 操作方法：

罹患肝腫瘤的大鼠分別由肝動脈及尾靜脈予以注射一定量的如實施例 1 所製備的具放射性的三氧化二砷(放射活性範圍為 2.77~3.25 mCi/ml，濃度為 1 mg/ml，動物注射劑量為 0.45 mg/kg)。

- 10 於注射後，分別在 2 小時、4 小時、16 小時、24 小時及 48 小時，大鼠以大量心臟採血予以犧牲，並取出血液、心臟、肺臟、肝臟、脾臟、腎臟、小腸、膀胱、肌肉及腫瘤，且將此等器官分別放置於試管中，以一伽馬計數器( $\gamma$  counter, Wallac 1470 WIZARD)來計數放射線強度，並利用
- 15 標準曲線回歸法(standard curve regression)來校正每公克的器官內所含三氧化二砷含量百分比。每一實驗組及時間點各有 2 或 3 隻實驗動物。

- 將部分器官組織(血液、腎臟及肝臟)送至核能研究所進行感應耦合的質譜分析法(Inductively Coupled Plasma
- 20 Mass Spectrometry, ICP-MAS)，以觀察三氧化二砷於腫瘤以及體內各器官內的生物分布情況。

### 結果：

三氧化二砷對於人類各種惡性腫瘤之療效及作用代謝途徑目前已廣泛被研究與討論，然而其在生物體內之生物

## 玖、發明說明

分布仍不清楚。

本實驗顯示，分別由大鼠的肝動脈及尾靜脈注射以具放射性的三氧化二砷後，分別於第 2、4、16、24 及 48 小時觀察該具放射性的三氧化二砷在腫瘤及體內各器官內的分布情況。第 2 圖顯示依據本發明的具放射性三氧化二砷，經由尾靜脈及肝動脈注射後，於不同時間在大鼠體內腫瘤中的分布情況。第 3 圖顯示依據本發明的具放射性三氧化二砷，經由尾靜脈及肝動脈注射後，於不同時間在大鼠體內各器官中的分布情況。

具放射性的三氧化二砷分別從尾靜脈(I.V.)及肝動脈(I.H.)注射至大鼠體內，計算劑量以 MIRD 方法，並使用軟體 Excel 來計算出各器官及腫瘤之滯留時間(Residence Time)，最後運用 MIROSE 3 軟體來算出各器官及腫瘤內之輻射吸收劑量，結果如下面表 3 所示。

表 3. 放射性三氧化二砷分別從尾靜脈(I.V.)及肝動脈(I.H.)注射至動物體內，各器官及腫瘤之輻射吸收劑量

	IV	IH
	(mGy/MBq)	(mGy/MBq)
肺臟	0.47	0.56
脾臟	0.76	0.95
腎臟	0.25	0.28
肝臟	0.13	0.21
肌肉	0.06	0.12
小腸	0.16	0.23
腫瘤	4.26	21

放射性三氧化二砷從肝動脈注射及尾靜脈注射之輻射吸收劑量分別為 21 mGy/MBq 和 4.26 mGy/MBq，兩者相差

## 玖、發明說明

5 倍之多，而其他器官包括肺、脾、腎、肝等則相近似。

由肝動脈來注射該具放射性的三氧化二砷，在第 2 小時至第 4 小時之間，該具放射性的三氧化二砷在肝腫瘤中的含量達到最高峰，並明顯地高於由尾靜脈注射的實驗組所得結果。對於採用肝動脈注射的實驗組而言，在注射 4 個小時以後，該具放射性的三氧化二砷在肝腫瘤內的含量向下滑落並達到平衡。而對於採用尾靜脈注射的實驗組而言，在注射 4 個小時以後，該具放射性的三氧化二砷在肝腫瘤內的含量有緩緩上升的趨勢。對於這兩個採用不同注射方式的實驗組，該具放射性的三氧化二砷在肝腫瘤內的含量於第 16 個小時後達到相同的平衡值(第 2 圖)。

以 ICP-MAS 分析血液、腎臟及肝臟內的三氧化二砷含量，所得結果(未示出)和使用放射線分析測得的生物分布試驗有相同之趨勢。

15 藉由肝動脈及尾靜脈注射後第 4 個小時，在所測試的器官當中，膀胱及尿液內所含有的該具放射性的三氧化二砷含量僅次於腫瘤中之含量。心臟、肺臟及脾臟內所含有的該具放射性的三氧化二砷含量皆維持在一定的範圍內(1~3% ID/g)(第 3 圖)。

20 再者，於 48 小時之後，該具放射性的三氧化二砷於所有器官內的累積量都下降(第 3 圖)，而 IV 和 IH 注射投藥的結果很接近(第 2 圖)。這些結果應可支持含有該具放射性的三氧化二砷之藥學組成物可適用全身性投藥途徑。

另外，本實驗顯示，不論注射的方法為何，腫瘤能夠



## 玖、發明說明

蓄積三氧化二砷的程度為一定值，而且不論採用何種注射方法，三氧化二砷在心、肺及脾臟都有一定程度的蓄積。三氧化二砷及放射線皆有可能對這些組織器官造成傷害，因此，可進一步將本案具放射性的三氧化二砷配製於適當載體內，以便能夠更專一性地停留在肝腫瘤而又不會對週遭的組織器官造成傷害或是使傷害減少。

### 實施例 4. 療效評估試驗(Therapeutic effect assessment)

#### A. 連續靜脈內注射：

將帶有肝腫瘤的大鼠分別由尾靜脈注射以生理鹽水、含有未經中子照射處理的三氧化二砷的注射液(濃度 1 mg/ml，動物注射劑量 0.45 mg/kg)以及實施例 1 所製備的含有經中子照射處理的具放射性三氧化二砷的注射液(放射活性範圍為 2.77~3.25 mCi/ml，濃度 1 mg/ml，動物注射劑量 0.45 mg/kg)，持續注射 2 週。

於注射前，先以超音波掃描來檢測腫瘤的大小，並於開始注射後第一週、第二週及第五週分別進行超音波掃描檢測，以觀察腫瘤大小變化。最後，將動物犧牲，以觀察是否有腫瘤轉移的現象。

#### B. 肝動脈單一注射：

經由外科手術將大鼠的肝動脈血管與肝組織剝離，並由肝動脈分別注入以生理食鹽水、含有未經中子照射處理的三氧化二砷的注射液(濃度 1 mg/ml，動物注射劑量 0.45 mg/kg)以及實施例 1 所製備的含有經中子照射處理的具放

## 玖、發明說明

射性三氧化二砷的注射液(放射活性範圍為 2.77~3.25 mCi/ml, 濃度 1 mg/ml, 動物注射劑量 0.45 mg/kg), 單一注射一次。

5 於注射前, 先以超音波掃描以檢測腫瘤的大小, 並於開始注射後第一週、第二週及第五週分別進行超音波掃描檢測, 以觀察腫瘤大小變化。最後, 將動物犧牲, 以觀察是否有腫瘤轉移的現象。

### C. 肝腫瘤直接注射:

對帶有肝腫瘤的大鼠進行外科手術, 在找到腫瘤的位置後, 分別於腫瘤上直接注射以生理食鹽水、含有未經中子照射處理的三氧化二砷的注射液(濃度 1mg/ml, 動物注射劑量 0.45 mg/kg)以及實施例 1 所製備的含有經中子照射處理的具放射性三氧化二砷的注射液(放射活性範圍為 2.77~ 3.25 mCi/ml, 濃度 1 mg/ml, 動物注射劑量 0.45 mg/kg), 每週注射一次, 共注射二次。

於注射前, 先以超音波掃描以檢測腫瘤的大小, 並於開始注射後第一週及第四週分別進行超音波掃描檢測, 以觀察腫瘤大小變化。最後, 將動物犧牲, 以觀察是否有腫瘤轉移的現象。

### 20 結果:

#### A. 連續靜脈注射:

下面表 4 顯示採用尾靜脈連續注射的實驗結果。

## 玖、發明說明

表 4. 由尾靜脈連續注射以生理食鹽水、三氧化二砷、具放射性的三氧化二砷之後，大鼠的肝腫瘤大小變化以及生存時間

	腫瘤大小 (cm x cm)						
編號	注射前	注射後			增加 (In) 或 減少 (de) %	反應	存活時間 (天)
		第 1 週	第 2 週	第 5 週			
生理食鹽水組							
254	1.38 x 0.921	1.61 x 1.13	0.989x0.391	1.85 x 1.47	In 49.28 %	不佳	32
255	1.56 x 1.27	1.79 x 1.33	2.01 x1.51	2.99 x 2.63	In 230 %	不佳	37
258	1.59 x1.20	2.1 x 1.95	—	—	In 114 %	不佳	8
262	0.971 x 0.656	0.802 x 0.720	0.645 x 0.542	—	In 142 %	不佳	28
273	1.42 x 1.08	1.14 x1.01	2.5 x 2	—	In 334 %	不佳	12
三氧化二砷組							
251	1.61x1.08	2.30 x 1.64	—	—	In 116.93 %	不佳	14
253	1.32 x 0.97	2.03 x 1.41	1.71 x 1.40	1.28 x 0.933	De 35.11 %	尚可	42
256	1.65 x 1.11	2.22 x 1.75	—	—	In 12 %	不佳	7
268	1.249 x 0.976	2.04 x 1.46	1.54 x 1.23	—	De 31.31 %	尚可	14
271	1.52 x 1.13	1.01 x 0.8	1.16 x 1.10	2.01 x 0.7	In 14.13 %	不佳	40
放射性三氧化二砷組							
252	1.21.x 0.92	2.06x1.53	1.73 x 1.44	1.49 x 1.24	De 40.53 %	優良	>56
259	1.68 x1.18	2.32 x 1.46	1.90 x1.45	1.08 x 0.78	De 74.87 %	優良	>56
260	1.26 x 1.01	2.16 x 1.62	1.89 x 1.79	1.67 x 1.49	De 28.89 %	優良	>56
265	1.20 x 0.834	1.96 x1.48	1.42 x0.954	0.906 x 0.556	De 82.64 %	優良	>56
274	1.84 x 0.815	0.998 x 0.684	0.943 x0.516	0.919 x 0.304	De 59.08 %	優良	>56

註：腫瘤大小增加 (In%) 歸類為反應不佳 (Poor Response)；腫瘤大小減少 0%~40% 歸類為反應尚可 (Mild Response)；腫瘤大小減少 50% 以上或腫瘤消失，歸類為反應優良 (Good Response)。

帶有肝腫瘤的大鼠經由尾靜脈注射以生理食鹽水，於第 8 天時即有大鼠開始死亡，經解剖後，皆發現有腹水的現象，腫瘤的大小也較第一次超音波檢測時為大。沒有死亡的大鼠於注射後第 5 週作超音波檢測，腫瘤亦比注射後第一週時的超音波檢測結果為大。至注射後第八週時，所有注射以生理食鹽水的大鼠皆已死亡，經解剖都沒有發現轉移的現象。

對於經由尾靜脈被注射以未經中子照射處理的三氧化二砷之大鼠，於注射後第一週使用超音波檢測，腫瘤皆有

## 玖、發明說明

擴大的現象，第二週腫瘤則有縮小的趨勢，至第五週時腫瘤並沒有太大的改變，而未因麻醉死亡的大鼠至第八週時仍存活。

對於經由尾靜脈被注射以經中子照射處理的三氧化二砷的大鼠，於注射後第一週腫瘤呈現生長的狀態，但第二週後腫瘤漸有縮小的趨勢，至第五週測量時，腫瘤大小雖較注射後第一週時為大，但小於注射後第二週時檢測的大小，此組別之大鼠至八週時仍全數存活。

雖然在注射生理食鹽水的實驗組中，有些大鼠的腫瘤於第二週即呈現小幅縮小的狀況，但其壽命皆短於注射三氧化二砷或注射具放射性的三氧化二砷的組別，經解剖後發現，其腫瘤皆深入生長至肝組織中，因此，以超音波檢測平面腫瘤大小時，雖然腫瘤呈現小幅縮小，但實際上腫瘤卻有增長的趨勢並造成動物腹水死亡，故而壽命短於接受三氧化二砷(抗癌藥物)和本案具放射性的三氧化二砷(放射性藥物)治療的組別。

此外，在接受注射三氧化二砷治療的實驗組中，有些動物於第二週死亡，死因係為麻醉過量，解剖後發現其腫瘤並沒有轉移現象或異狀，存活的動物再繼續給予三氧化二砷，然而，三氧化二砷抑制腫瘤生長的效果並不顯著。

本實驗顯示，在連續尾靜脈注射第一週的療程中，三氧化二砷以及本案具放射性的三氧化二砷對於腫瘤生長尚未出現抑制腫瘤生長的效果，各組動物體內的腫瘤皆呈現生長的趨勢；而於療程的第二週起，藥物對於腫瘤才開始

## 玖、發明說明

有抑制的效果，其中被注射以本案具放射性的三氧化二砷之大鼠體內的腫瘤生長受抑制的狀況最為顯著。由此結果研判，第一週藥物治療時，藥物尚未對腫瘤產生反應，於第二週持續給藥後，藥物對於腫瘤才有抑制生長及緩解作用，但腫瘤尚無法完全消失。

### B. 肝動脈單一注射：

下面表 5 顯示採用肝動脈單一注射的實驗結果。

表 5. 由肝動脈單一注射以生理食鹽水、三氧化二砷、放射性三氧化二砷之後，大鼠的肝腫瘤大小變化以及生存時間

	腫瘤大小 (cm × cm)						
編號	注射前	注射後			增加 (In) 或 減少 (de) %	反應	存活時間 (天)
		第 1 週	第 2 週	第 5 週			
生理食鹽水組							
502	1.29x 0.764	1.52x 0.875	1.31x 1.05	2.35x 1.01	In 78.57%	不佳	38
503	0.986x 0.550	0.983x 0.989	2.10x 1.82	1.51x 0.867	In 36.07%	不佳	36
506	0.729x 0.642	0.823x 0.733	1.26x 1.15	—	In 44.9%	不佳	14
507	1.12x 0.717	1.71x 1.23	2.75x 1.83	2.88x 2.50	In 242.31%	不佳	38
三氧化二砷組							
512	1.40x 0.900	2.07x 1.60	1.85x 1.28	1.90x 1.60	De 8.21%	尚可	> 42
513	0.448x 0.452	0.583x 0.775	2.04x 1.34	1.25x 1.15	In 218.15%	不佳	36
523	1.10x 0.867	1.22x 0.856	1.17x 1.14	2.86x 2.37	In 549.05%	不佳	39
524	1.17x 0.525	1.21x 0.878	1.23x 0.707	1.10x 0.679	De 29.69%	尚可	> 42
放射性三氧化二砷組							
515	0.940x 0.414	1.71x 0.775	2.29x 1.51	消失	De 100%	優良	> 42
518	0.683x 0.539	0.25x 0.989	消失	消失	De 100%	優良	> 42
519	0.875x 0.600	1.27x 1.07	1.79x 1.09	0.972x 0.819	De 56.60%	優良	> 42
521	0.783x 0.598	0.878x 0.625	消失	消失	De 100%	優良	> 42

註：腫瘤大小增加 (In%) 歸類為反應不佳 (Poor Response)；腫瘤大小減少 0%~40% 歸類為反應尚可 (Mild Response)；腫瘤大小減少 50% 以上或腫瘤消失，歸類為反應優良 (Good Response)。

由肝動脈單一注射生理食鹽水、三氧化二砷以及本案具放射活性的三氧化二砷後，對於注射食鹽水的實驗組，注射五週後肝腫瘤的大小顯著大於注射後第一週之腫瘤大小，並有動物於注射後第二週死亡；對於注射三氧化二砷

## 玖、發明說明

的實驗組，部分動物在注射後第五週腫瘤的大小較注射後第一週稍小，部分動物的腫瘤仍為生長的狀況；對於注射本案具放射活性三氧化二砷的實驗組，部分動物於注射藥物第二週時，腫瘤即縮小或消失，其餘動物於注射後第五  
5 週腫瘤皆消失及縮小。

直接由肝動脈單一注射三氧化二砷的療效並不理想，雖然有部分動物有腫瘤縮小的現象，但程度都不是很大。而由肝動脈單一注射本案具放射性的三氧化二砷，在注射後第二週即有動物的腫瘤完全消失且其餘動物的腫瘤也有  
10 立即縮小的趨勢，由此結果研判，由肝動脈單一注射具放射性之三氧化二砷時，放射線能夠立即破壞肝腫瘤細胞及組織。

### C. 肝腫瘤直接注射：

下面表 6 顯示採用肝腫瘤上直接注射的實驗結果。  
15

## 玖、發明說明

表 6. 直接由肝腫瘤單一注射生理食鹽水、三氧化二砷、具放射性的三氧化二砷之後，大鼠的肝腫瘤大小變化以及生存時間

	腫瘤大小 (cm x cm)					
編號	注射前	注射後		增加 (In) 或 減少 (de) %	反應	存活時間 (天)
		第 1 週	第 4 週			
生理食鹽水組						
526	1.02x1.31	1.82 x 1.49	2.82 x 2.22	In 144.13 %	不佳	>30
528	2.07 x 1.55	2.71 x 2.07	3.03 x 2.77	In 49.61 %	不佳	>30
536	1.81 x 1.51	2.58 x 1.92	2.35 x 2.34	In 11.01 %	不佳	>30
三氧化二砷組						
525	1.23 x 1.03	2.24 x 1.40	1.90 x 1.50	De 9.12 %	尚可	>30
529	1.31 x 1.30	2.21 x 1.49	2.67 x 1.70	In 37.84%	不佳	>30
533	1.12 x 1.08	1.50 x 1.87	1.21 x 1.19	De 43.99 %	優良	>30
放射性三氧化二砷組						
530	1.33x0.675	1.10x0.700	0.506x0.642	De 57.81%	優良	> 30
534	1.03x0.711	1.10x0.747	0.708x0.392	De 66.22%	優良	> 30
538	0.728x0.700	0.945x0.600	0.500x0.244	De 78.48%	優良	> 30

5 註：腫瘤大小增加 (In%) 歸類為反應不佳 (Poor Response)；腫瘤大小減少 0%~40% 歸類為反應尚可 (Mild Response)；腫瘤大小減少 50% 以上或腫瘤消失，歸類為反應優良 (Good Response)。

單一由肝腫瘤上直接注射生理食鹽水、三氧化二砷及本案具放射性的三氧化二砷後，對於注射生理食鹽水的實驗組，在注射四週後肝腫瘤的大小顯著大於注射後第一週的腫瘤大小；對於注射三氧化二砷的實驗組，部分動物在注射後第四週腫瘤的大小較注射後第一週的腫瘤稍小，部分動物的腫瘤仍為生長的狀況；對於注射本案具放射性的三氧化二砷的實驗組，至注射後第四週，所有動物的腫瘤皆縮小。所有動物至計劃結束日仍存活。由此研判，在肝腫瘤上直接注射放射性藥物時，放射線能夠立即破壞肝腫瘤細胞及組織，而此一結果與由肝動脈單一注射放射性藥物時的情況相似。

從上面三個療效評估試驗可以歸納出：

I. 持續由靜脈注射具放射性的三氧化二砷能有效地抑制

## 玖、發明說明

肝腫瘤生長，並延長罹患肝癌動物的生存時間；由尾靜脈注射無放射性的三氧化二砷，緩解肝腫瘤的效能較小，但亦能延長罹患肝癌動物壽命；

II. 由肝動脈或肝腫瘤單一注射具放射性的三氧化二砷，

5 能立即對腫瘤造成傷害而使腫瘤不再生長，進而縮小且消失；由肝動脈或肝腫瘤單一注射無放射線之三氧化二砷，療效較差；以及

III. 具放射性的三氧化二砷以肝動脈注射至動物體內之肝腫瘤輻射吸收劑量是尾靜脈注射所得結果的五倍。

10 雖然本發明已藉由上述詳細說明以及較佳實施例來予以闡釋，本發明不應被解釋為受之所限制；相對地，本發明實係涵蓋，當熟知此項技藝者從本案發明說明書所揭示的技術內容與實施來考量時，可以做出的多種其他不同等  
15 效變化及與修飾。因此，在不偏離本發明之精義下，大凡依本發明申請專利範圍及發明說明書內容所作之簡單的等  
效變化與修飾，皆應仍屬本發明專利涵蓋之範圍內。

### 【圖式簡單說明】

第 1 圖顯示經中子照射處理後的三氧化二砷內所含砷元素  $^{75}\text{As}(n,\gamma)^{76}\text{As}$  之伽馬能譜(gamma-energy spectrum)；

20 第 2 圖顯示依據本發明的具放射性三氧化二砷，經由尾靜脈及肝動脈注射後，於不同時間在大鼠體內腫瘤中的分布情況；以及

第 3 圖顯示依據本發明的具放射性三氧化二砷，經由



## 玖、發明說明

尾靜脈及肝動脈注射後，於不同時間在大鼠體內各器官中的分布情況。

### 【圖式之主要元件代表符號表】

(無元件)

## 拾、申請專利範圍

1. 一種藥學組成物，其包含有：

(a)一治療有效量之一具放射性的含砷化合物，該具放射性的含砷化合物係藉由一包含下列步驟之方法而被製得：

5 (i)將一選自於下列群組中的含砷化合物引至一中子照射處理：三氧化二砷( $\text{As}_2\text{O}_3$ )、三硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_3$ )、二硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_2$ )，以及此等之一組合，

藉此，該含砷化合物內所包含的砷元素被轉  
10 化成為一具放射性的砷同位素；以及

(ii)回收由步驟(i)所形成的產物；以及

(b)一藥學上可接受之載劑。

2. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中該具放射性的含砷化合物可放射出(emit)  $\gamma$  粒子與  $\beta$  粒子。

15 3. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中該具放射性的含砷化合物含有  $^{76}\text{As}$  同位素。

4. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中該具放射性的含砷化合物是為經中子照射處理過的  $\text{As}_2\text{O}_3$ 。

5. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其被製成呈一  
20 注射劑型之形式。

6. 一種用以製備一具放射性的含砷化合物之方法，其包含下列步驟：

(i)將一選自於下列群組中的含砷化合物引至一中子照射處理：三氧化二砷( $\text{As}_2\text{O}_3$ )、三硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_3$ )、

## 拾、申請專利範圍

二硫化二砷( $\text{As}_2\text{S}_2$ )，以及此等之一組合，

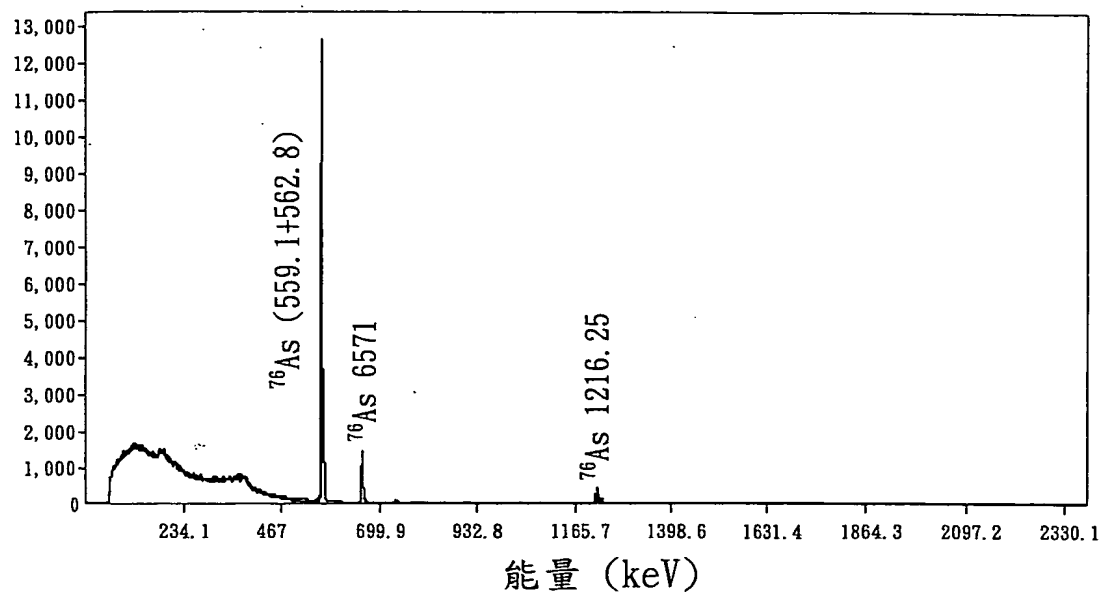
藉此，該含砷化合物內所包含的砷元素被轉化成  
為一具放射性的砷同位素；以及

(ii)回收由步驟(i)所形成的產物。

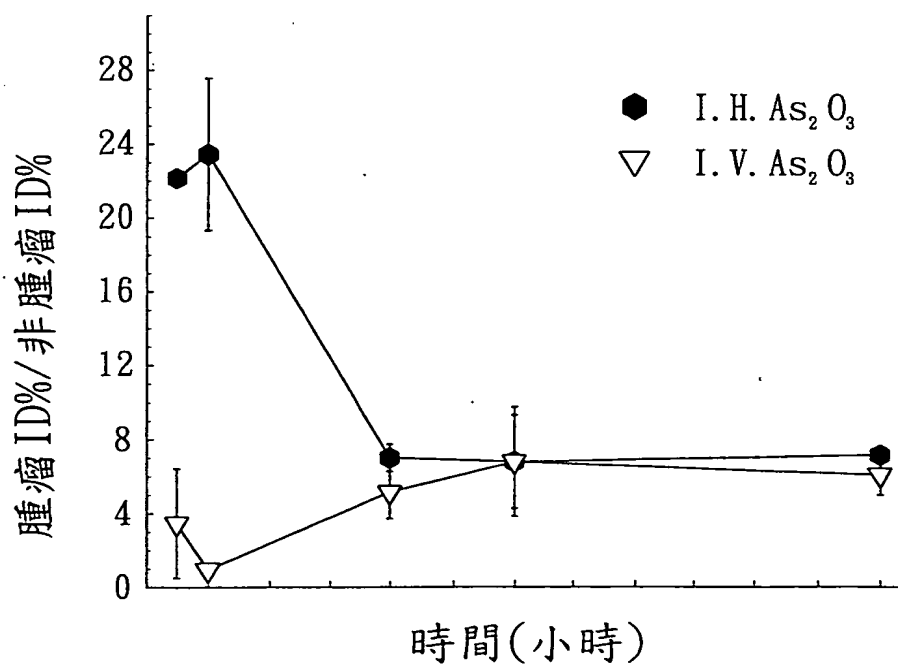
- 5 7. 如申請專利範圍第 6 項的方法，其中由步驟(ii)所回收的產物可放射出  $\gamma$  粒子與  $\beta$  粒子。
8. 如申請專利範圍第 6 項之方法，其中由步驟(ii)所回收的產物含有  $^{76}\text{As}$  同位素。
9. 如申請專利範圍第 6 項的方法，其中被使用於步驟(i)  
10 中的該含砷化合物是為  $\text{As}_2\text{O}_3$ 。
10. 一種用於治療一腫瘤或癌症的藥學組成物，其包含：
  - (a) 一治療有效量之一種由申請專利範圍第 6 項的方法所製得之具放射性的含砷化合物；以及
  - (b) 一藥學上可接受之載劑。
- 15 11. 如申請專利範圍第 10 項之藥學組成物，其中該腫瘤或癌症係選自於下列所構成的群組：血液腫瘤(hematological malignancies)以及固態腫瘤(solid tumors)。
12. 如申請專利範圍第 10 項之藥學組成物，其中該固態腫  
20 瘤係選自於下列所構成的群組：乳癌(breast cancer)、直腸癌(rectal cancer)、肝腫瘤(liver tumor)、卵巢癌(ovarian cancer)以及攝護腺癌(prostate cancer)。
13. 如申請專利範圍第 10 項之藥學組成物，其中該肝腫瘤係選自於下列所構成的群組：肝細胞癌(hepatocellular

## 拾、申請專利範圍

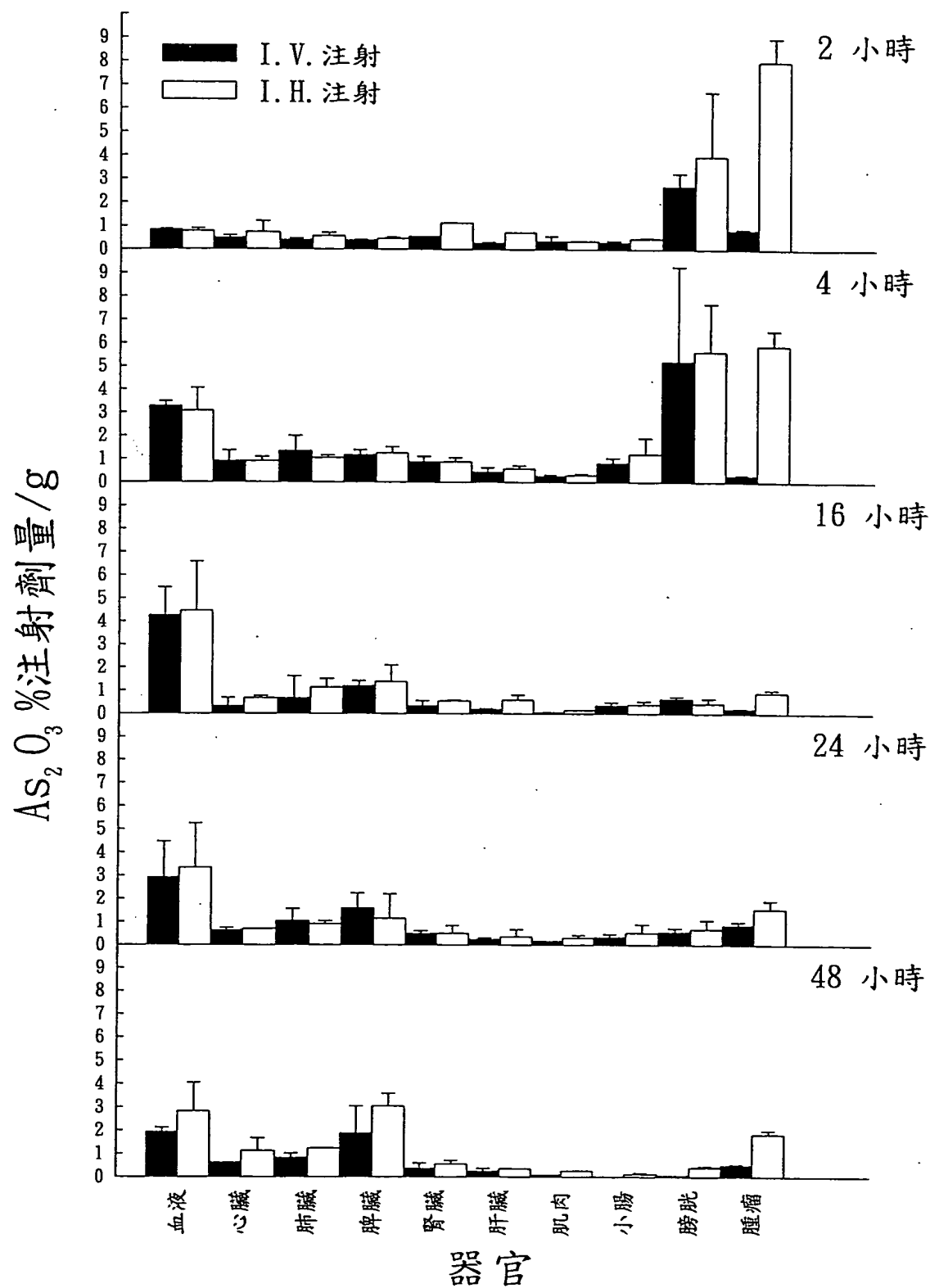
- carcinoma)、膽管癌(cholangiocarcinoma)、肝臟細胞癌(liver cell carcinoma)、纖維層變異型肝腫瘤(fibrolamellar variant of hepatocellular carcinoma)、肝內膽管癌(intrahepatic bile duct carcinoma)、肝細胞及膽管混合癌(mixed hepatocellular cholangiocarcinoma)、未分化肝細胞癌(undifferentiated hepatocellular carcinoma)、肝腫瘤併總膽管侵入(hepatoma with tumor invasion to common bile duct)、肝母細胞腫瘤(hepatoblastoma)、兒童肝腫瘤(childhood hepatic tumor)以及原發性肝細胞癌(primary hepatocellular carcinoma)。
- 5
- 10
14. 如申請專利範圍第 10 項之藥學組成物，其被製成呈一注射劑型之形式。
- 15
15. 如申請專利範圍第 10 項之藥學組成物，其中該具放射性的含砷化合物可放射出  $\gamma$  粒子與  $\beta$  粒子。
16. 如申請專利範圍第 10 項之藥學組成物，其中該具放射性的含砷化合物是為經中子照射處理過的  $\text{As}_2\text{O}_3$ 。
17. 如申請專利範圍第 10 項之藥學組成物，其中該具放射性的含砷化合物含有  $^{76}\text{As}$  同位素。



第1圖



第2圖



器官  
第3圖